

ALI VISOKO MALIGNI B-CELIČNI LIMFOMI, DVOJNI EKSPRESORJI, RES POTREBUJEJO INTENZIVNEJŠO KEMOTERAPIJO?

Lučka Boltežar^{1,2}, Samo Rožman¹, Gorana Gašljević¹, Biljana Grčar Kuzmanov¹, Barbara Jezeršek Novaković^{1,2}

¹ *Onkološki inštitut Ljubljana, Zaloška cesta 2, 1000 Ljubljana, Slovenija*

² *Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Vrazov trg 2, 1000 Ljubljana, Slovenija*

Elektronski naslov: lboltezar@onko-i.si

Izvleček

Velikocelični B limfomi z BCL2 in BCL6 preureditvijo so imenovani "double-hit" oziroma "triple-hit" limfomi, z imunohistokemično ekspresijo pa dvojni ekspresorji (DE) in vsi imajo slabšo prognozo od klasičnih velikoceličnih limfomov B. Opravljena je bila študija vseh bolnikov z visoko malignimi B limfomi in difuznim velikoceličnim limfomom B, zdravljenih na Onkološkem inštitutu Ljubljana med leti 2017 in 2021. Večina izmed 154 vključenih bolnikov je bila zdravljenih z R-CHOP terapijo (rituksimab, ciklofosfamid, doksorubicin, vinkristin in prednizon), mediani čas spremljanja bolnikov je bil 22 mesecev. 110 bolnikov (71,4 %) ni imelo ponovitve bolezni v opazovanem obdobju. V primerjavi štirih uporabljenih terapevtskih protokolov v skupini DE nismo našli razlik v preživetju ($p = 0,712$). Preživetje bolnikov z "double-hit" in "triple-hit" limfomi je bilo, pričakovano, slabo. Naši podatki kažejo, da je velik del bolnikov z DE, zdravljen z R-CHOP in standardno CZS profilakso, tudi uspešno ozdravljen. Za potrditev naših izsledkov so potrebne večje randomizirane raziskave.

Uvod

V letu 2016 objavljena prenovljena klasifikacija Svetovne Zdravstvene Organizacije (SZO) je dodala obvezno molekularno testiranje v diagnostiki difuznega velikoceličnega limfoma B (DVCBL) v vsakodnevno prakso hematopatologov (1). Velikocelični B limfomi z MYC preureditvijo in »B-cell lymphoma 2« (BCL2) ter »B-cell lymphoma 6« (BCL6) preureditvijo so bili klasificirani kot »double-hit« (DHL) in »triple-hit« (THL) limfomi. V kolikor pa kromosomske preureditve niso prisotne in celice izražajo MYC in BCL2 proteina le imunohistokemično, se tak limfom imenuje dvojni ekspresor (DE) DVCBL (1). V letu 2022 posodobljena SZO klasifikacija ukinja BCL6 in ohranja le MYC in BCL2 prerazporeditvi kot definicijo »double-hit« limfomov (2). Incidenca DHL, THL in DE variira. V literaturi je opisano od 7 % DHL v populaciji DVCBL(3) do 14 % DHL in 34 % DE (4). V splošnem se ocenjuje, da so DE prisotni v 20 do 30% pri novoodkritem DVCBL (2,5). Standardno zdravljenje DVCBL je R-CHOP (rituksimab, ciklofosfamid, doksorubicin, vinkristin in prednizon), a mednarodne smernice priporočajo intenzivnejšo kemoterapijo za DHL in THL(6), medtem ko priporočila za DE niso tako jasna in so dokazi o potrebnem intenzivnejšem zdravljenju DE limfomov šibkejši (7,8). DE DVCBL imajo slabše preživetje brez napredovanja bolezni (PFS) in celokupno preživetje (OS) kot standardni DVCBL, in to ne glede na mednarodni prognostični indeks (IPI) ali celico izvora (1,9).

Namen naše raziskave je bil določiti incidenco DHL, THL in DE limfomov v naši seriji bolnikov z DVCBL in oceniti njihove klinične karakteristike, prvo zdravljenje in primerjati preživetje med tistimi, ki so bili zdravljeni s standardnim R-CHOP in tistimi, ki so bili zdravljeni z intenzivnejšimi protokoli.

Metode

Retrospektivno smo analizirali vse bolnike z DVCBL in visoko malignimi B-celičnimi limfomi z MYC in BCL2 ter BCL6 preureditvami, ki so bili diagnosticirani na Onkološkem inštitutu med leti 2017 in 2021. V nadaljnje analize smo vključili le bolnike z diagnozo DE DVCBL, DHL in THL. Vključeni so bili vsi tisti, ki so dobili vsaj en ciklus sistemskega zdravljenja, medtem ko smo izključili tiste, ki za sistemsko zdravljenje niso bili sposobni oziroma so bili le paliativno obsevani. Zajeli smo demografske podatke, izračunali IPI in zabeležili sheme zdravljenja. Upoštevali smo prvi red zdravljenja za DE/DHL/THL, torej, če je bila diagnoza DE postavljena ob ponovitvi bolezni, smo upoštevali zdravljenje, ki ga je bolnik dobil za DE diagnozo. Podatke o preživetju smo pridobili iz Registra raka na dan 9.5.2022. Raziskavo je odobrila komisija za klinične raziskave Onkološkega inštituta (KSOPKR-0088/2021) in Etična komisija Onkološkega inštituta (EK-0100/2021).

Vzorke tkiva sta ločeno pregledali izkušeni hematopatologinji, ki nista imeli podatkov o kliničnem poteku bolezni. Po odčitku sta rezultate primerjali ter primere, kjer sta se odločili drugače, skupaj pregledali pod mikroskopom ter podali končno mnenje. DVCBL smo razdelili glede na celico izvora na aktivirani B-celični podtip (ABC) ter podtip germinalnega centra (GCB), glede na Hansov algoritem (10).

Za demografske podatke smo uporabili deskriptivno statistiko ter Mann-Whitneyev neparametrični test. Preživetje smo ocenili s Kaplan-Meier metodo in razlike iskali z log-rank testom. P vrednost manj kot 0,05 smo šteli kot statistično značilno. Uporabili smo program IBM SPSS Statistics, verzijo 26.

Rezultati

Skupno je bilo pregledanih 309 primerov DVCBL in 22 primerov visoko malignih B-celičnih limfomov. 161 (52,1 %) jih je bilo opredeljenih kot DE DVCBL. 16 bolnikov je bilo DHL (4,8 %) ter pet bolnikov THL (1,5 %). Ob upoštevanju zgoraj naštetih izključitvenih kriterijev, smo nadaljnje analizirali 154 bolnikov. Izmed 154 bolnikov jih je bilo 135 DE, 16 DHL in 3 THL. Osemdeset od 135 je imelo ABC podtip in 55 GCB podtip. Mediana starost bolnikov je bila 70 let (razpon 21-91). Mediano število ciklusov zdravljenja je bilo 6. B simptome je imelo 42 % bolnikov, ekстранodalno prizadetost pa 48 % bolnikov. Povišano vrednost laktatne dehidrogenaze (LDH) v krvi je imelo 55,8 % bolnikov. Mediana vrednost IPI je znašala 3.

Bolnike smo razdelili v štiri skupine glede na terapijo, ki so jo prejeli. Skupino A so predstavljali bolniki, zdravljeni z R-CHOP (ali R-mini-CHOP pri starejših bolnikih), skupino B bolniki, ki so bili zdravljeni z R-CHOP in srednjo dozo metotreksata (0,5 mg/m²), skupino C so predstavljali bolniki, ki so bili zdravljeni z R-DA-EPOCH (rituksimab, doksorubicin, ciklofosamid, etopozid, vinkristin, prednizolon) in skupino D so predstavljali bolniki, ki niso bili zdravljeni z antraciklini (razlogi za to: kardiološko

obolenje, zdravljenje z antraciklinom v preteklosti zaradi drugega malignoma ali pa relaps DE/DHL/THL in je bil bolnik že v prvem redu zdravljen z antraciklinom zaradi druge vrste limfoma). V skupini A je bilo 109 bolnikov (70,8 %), v skupini B 10 (6,5 %), v skupini C 19 (12,3 %) in v skupini D 16 (10,4 %) bolnikov. Profilakso centralnega živčnega sistema (CŽS) je dobilo 78 bolnikov (50,7 %), večinoma z intratekalno kemoterapijo (75/78), trije pa z visoko dozo metotreksata intravenozno.

Od zajetju podatkov je bilo 105 bolnikov še živih (68,2 %). Izmed 49 umrlih, jih je 37 umrlo zaradi limfoma oziroma vzroka, povezanega z limfomom (75,5 %) in 12 zaradi drugih razlogov (24,5 %). Mediani čas spremljanja je bil 22 mesecev. 118 bolnikov (76,6 %) je po zaključenem prvem zdravljenju doseglo popolno remisijo, 6 bolnikov (3,9 %) delno remisijo, eden je imel stabilno bolezen in 19 bolnikov (12,3 %) je imelo progres bolezni že tekom prvega zdravljenja. 110 bolnikov ni imelo ponovitve bolezni v opazovanem času (71,4 %), 34 jih je imelo progres med ali takoj po zdravljenju DE/DHL/THL (21,1%) in za 10 bolnikov ocena izhoda zdravljenja ni bila možna (razlogi: izgubljeni iz kontrol, zavrnil evaluacijo, odšel v tujino). Izmed 34 bolnikov, ki so imeli napredovanje bolezni, jih je imelo sistemsko ponovitev 26 (76,5 %) in 8 ponovitev v CŽS (23,5 %).

V skupini dvojnih ekspresorjev je bilo 135 bolnikov - 65 moških in 70 žensk. Mediana starost je bila 70 let. Mediana IPI vrednost je bila 3. V terapevtski skupini A je bilo 100 bolnikov (74,1 %), v terapevtski skupini B 8 (5,9 %), v terapevtski skupini C 14 (10,4 %) in v terapevtski skupini D 13 bolnikov (9,6 %). Umrlo je 37 bolnikov, od tega 27 zaradi limfoma ali z limfomom povezanih razlogov (20,9 %). Ocenjeno petletno celokupno preživetje za celotno skupino je znašalo 57,1 % (95 % interval zaupanja (IZ) 45,9 % - 68,3 %) in ocenjeno petletno preživetje brez napredovanja bolezni 76,5 % (95 % IZ 72,6 % - 80,4 %). Analize podskupin podajamo v troletni oceni, saj je petletna ocena skupine D 0 %: triletno celokupno preživetje A skupine je znašalo 71,0 % (95 % IZ 66,0 % - 76,0 %), 70,0 % za terapevtsko skupino B (95 % IZ 51,8 % - 88,2 %), 77,9 % za terapevtsko skupino C (95 % IZ 66,6 % - 89,2 %) in 69,2 % za terapevtsko skupino D (95% IZ 56,4% - 82,0 %). Med skupinami ni bilo statistično pomembne razlike v preživetju ($p = 0,712$). Ocenjeno triletno preživetje brez napredovanja bolezni je bilo 71,4 % za skupino A (95 % IZ 66,6 % - 76,2 %), 65,6 % za skupino B (IZ % CI 44,7 % - 86,5 %), 83,9 % za skupino C 95 % IZ 73,5 % - 94,3 %) in 80,8 % za skupino D (95 % IZ 68,6 % - 93,0 %). Tudi tu med skupinami ni bilo statistično pomembne razlike v preživetju ($p = 0,843$).

Pri analizi preživetja glede na celico izvora ni bilo razlik med ABC in GCB podskupinama, ne v celokupnem preživetju ($p = 0,681$), ne v preživetju brez napredovanja bolezni ($p = 0,297$). Ocenjeno triletno celokupno preživetje ABC podskupine je bilo 66,8 % (95 % IZ 60,8 % - 72,8 %) in ocenjeno triletno celokupno preživetje GCB podskupine 77,1 % (95 % IZ 71,2 % - 83,0 %). Ocenjeno triletno preživetje brez napredovanja bolezni pri ABC podskupini je bilo 68,3 % (95 % IZ 62,4 % - 74,2 %) in pri GCB podskupini 79,4 % (95 % IZ 73,5% - 85,3 %).

Pri analizi preživetja DE bolnikov glede na IPI prognostične skupine, je bila statistično višje tveganje za smrt pri skupini IPI visoko tveganje (razmerje tveganj 7,68, 95 % IZ 2,32 - 25,49, $p = 0,001$), medtem ko v drugih IPI skupinah tveganje ni bilo značilno višje.

Podskupina DHL in THL je štela le 19 bolnikov, 16 od tega jih je imelo DHL. Mediana starost DHL podskupine je bila 69 let in THL skupine 66 let. Osem bolnikov je doseglo popolno remisijo po prvem zdravljenju, pet bolnikov je doživelo ponovitev bolezni in za tri bolnike ocena izhoda po končanem zdravljenju ni bila možna.

Ocenjeno petletno celokupno preživetje za DHL podskupino je bilo 32,4 % (95 % IZ 16,6 % – 48,2 %), vsi trije bolniki z THL pa so pokojni oziroma izgubljeni iz sledenja. Petletno preživetje brez napredovanja bolezni za DHL podskupino je bilo 34,9 % (95 % IZ 18,1 % – 53,0 %). Analize glede na terapevtske podskupine ter IPI kategorije niso bile narejene zaradi majhnosti vzorca.

Razprava

V našo študijo smo zajeli vse bolnike z difuznim velikoceličnim B limfomom, dvojnimi ekspresorjem ter »double-hit« ali »triple-hit« limfomom, zdravljeni v naši ustanovi z različnimi terapevtskimi shemami. Naša skupina se glede na razmerje bolnikov v DEL in DHL ter THL skupini ne razlikuje močno od literature (11). Tudi mediana starost 70 let je enaka kot v predhodnih študijah (9). V naši skupini smo beležili nižje IPI vrednosti, manj bolnikov s povišano koncentracijo LDH ter manj bolnikov z ekstrapodalno manifestacijo bolezni kot v objavljeni literaturi (12), kar so vse znani dejavniki, ki vplivajo na bolnikovo prognozo. To višje razmerje v korist dobrih prognostičnih dejavnikov lahko delno razloži naše dobre rezultate preživetja, vendar ne popolnoma, saj gre za analizo vseh bolnikov, ki so bili zdravljeni na OI in ne študijsko odbrano skupino. Nižje IPI kategorije v naši skupini lahko delno razložijo visok delež popolnih remisij po prvem redu zdravljenja, ki je bil dosežen v naši študiji in je višji kot ga navaja literatura (9).

V naši študiji smo beležili relativno visok delež DE DVCBL bolnikov izmed vseh DVCBL (52,1 %), kar lahko razložimo s striktno natančnostjo naših patologov, ki se držijo priporočil SZO, da je za BCL2 pozitiven izvid potrebno več kot 50 % izražanje proteina v vzorcu. V nedavno objavljeni metaanalizi Hwanga s sodelavci so ugotovili, da se le 51 % objavljenih mednarodnih študij drži meje 50 % za pozitiven izvid BCL2, medtem ko druge študije uporabljajo višjo mejo (največkrat 70 %) (5).

V primerjavi z literaturo je preživetje naših DHL bolnikov relativno nizko (12), vendar je treba poudariti, da gre za zelo majhno skupino bolnikov. Naše preživetje DEL bolnikov pa je zelo visoko, dosega celo preživetja ostalih DVCBL bolnikov (13), ki so bili zdravljeni le z R-CHOP. Razlik med preživetji terapevtskih podskupin nismo našli, vendar gre za neenakomerno porazdeljene skupine, saj bolniki niso bili randomizirani v študijo, ampak zdravljeni po obstoječi doktrini in glede na specialistovo odločitev ter stanje bolnika. Vendar vseeno mislimo, da naši rezultati doprinesejo k znanju v literaturi, da ne potrebujejo vsi DE bolniki intenzivnejšega protokola zdravljenja in so v veliki meri lahko ozdravljeni le z R-CHOP terapijo. Medtem ko so smernice za DHL in THL jasne, da so potrebni intenzivnejši protokoli zdravljenja, pa so manj jasne in z dokazi podprte glede intenzivnejšega zdravljenja DE limfomov. Gre za manjše študije mlajših bolnikov (7,8), ki starostno ne ustrezajo realnim pacientom z DE DVCBL. Nekaj študij je že objavljenih s primerjavo R-DA-EPOCH in R-CHOP pri DE bolnikih (14-16) in niso pokazale razlik v preživetju med R-CHOP in intenzivnejšimi protokoli, tako kot naša analiza. In tudi v naši študiji ponovno potrdimo, da je IPI točkovalnik še vedno eno

najmočnejših orodij za napovedovanje prognoze pri bolnikih z DVCBL.

Glavna prednost naše študije je, da gre za dosedaj največji zajem in analizo zaporednih bolnikov z DE DVCBL, zdravljenih v istem centru, ki so bili deležni enake obravnave s strani istih zdravnikov specialistov glede na njihovo stanje zmogljivosti in pridružene bolezni in zatorej niso izbrana populacija za klinične študije. Druga prednost je gotovo ta, da sta vse vzorce pregledali ločeno dve hematopatologinji. Glavna pomankljivost študije je neenakomerna porazdelitev bolnikov med terapevtskimi skupinami, retrospektivna narava študije in majhen vzorec bolnikov.

Zaključek

Naši podatki kažejo, da je velik del bolnikov z DE, zdravljen z R-CHOP in standardno ČŽS profilakso, tudi uspešno ozdravljen. Primerjava preživetij različnih terapevtskih skupin ni pokazala razlik med preživetjem glede na uporabljeni protokol zdravljenja. Glede na rezultate naše raziskave vsi DE bolniki verjetno ne potrebujejo intenzivnejšega zdravljenja. Za potrditev naših izsledkov so potrebne večje randomizirane raziskave.

Literatura

1. Swerdlow SH, Campo E, Pileri SA, et al. The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms. *Blood*. 2016;127(20):2375–2390.
2. Alaggio R, Amador C, Anagnostopoulos I, et al. The 5th edition of the World health organization classification of haematolymphoid tumours: lymphoid neoplasms. *Leukemia*. 2022;36(7):1720–1748.
3. Huang S, Nong L, Wang W, et al. Prognostic impact of diffuse large B-cell lymphoma with extra copies of MYC, BCL2 and/or BCL6: comparison with double/triple hit lymphoma and double expressor lymphoma. *Diagn Pathol*. 2019;14(1):81.
4. Zhiping M, Jing N, Yanzhen C, et al. Clinical significance of 'double-hit' and 'double-expression' lymphomas. *J Clin Pathol*. 2020;73(3):126–138.
5. Jisun H, Chonghyun S, Kyungwon K, et al. The Incidence and treatment response of double expression of MYC and BCL2 in patients with diffuse large B-Cell Lymphoma: a systematic review and meta-analysis. *Cancers (Basel)*. 2021;13(13):3369.
6. Zelenetz AD, Gordon LI, Abramson JS, et al. NCCN guidelines: B-cell lymphomas, version 5.2022. Available at: www.nccn.org, on date 21. July 2022.
7. Pedersen MO, Gang AO, Brown P, et al. Real world data on young patients with high-risk diffuse large B-cell lymphoma treated with R-CHOP or R-CHOEP - MYC, BCL2 and BCL6 as prognostic bio-markers. *PLoS One*. 2017;12(10):e0186983.
8. Doderio A, Guidetti A, Tucci A, et al. Dose-adjusted EPOCH plus rituximab improves the clinical outcome of young patients affected by double expressor diffuse large B-cell lymphoma. *Leukemia*. 2019;33(4):1047–1051.
9. Green TM, Young KH, Visco C, et al. Immunohistochemical double-hit score is a strong predictor of outcome in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with rituximab plus cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone. *J*

Clin Oncol. 2012;30:3460–67.

10. Hans CP, Weisenburger DD, Greiner TC, et al. Confirmation of the molecular classification of diffuse large B-cell lymphoma by immunohistochemistry using a tissue microarray. *Blood*. 2004;103:275–282.
11. Landsburg DJ, Petrich AM, Abramson JS, et al. Impact of oncogene rearrangement patterns on outcomes in patients with double-hit non-Hodgkin lymphoma. *Cancer*. 2016;122:559–564.
12. Riedell PA, Smith SM. Double hit and double expressors in lymphoma: Definition and treatment. *Cancer*. 2018;124(24):4622–4632.
13. Horvat M, Zadnik V, Južnič Šetina T, et al. Diffuse large B-cell lymphoma: 10 years' real-world clinical experience with rituximab plus cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine and prednisolone. *Oncol Lett*. 2018;15(3):3602–3609.
14. Devi K, Shaikh MU, Bahadur Ali N, et al. Outcomes of patients with double/triple expressor diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) treated with R-DA-EPOCH/R-CHOP: A single-center experience. *Leuk Res Rep*. 2021;16:100284.
15. D'Angelo CR, Hanel W, Chen Y, et al. Impact of initial chemotherapy regimen on outcomes for patients with double-expressor lymphoma: A multi-center analysis. *Hematol Oncol*. 2021;39(4):473–482.
16. Zhang XY, Liang JH, Wang L, et al. DA-EPOCH-R improves the outcome over that of R-CHOP regimen for DLBCL patients below 60 years, GCB phenotype, and those with high-risk IPI, but not for double expressor lymphoma. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2019;145(1):117–127.

